球拟假丝酵母生物合成槐糖脂及其衍生物研究进展*

张亚光，张传波，卢文玉**

（天津大学化工学院生物工程系，系统生物工程教育部重点实验室，天津化学化工协同创新中心合成生物学平台，天津，300072）

摘要 槐糖脂是一种糖脂类生物表面活性剂，因其低毒性、生物可降解性、生物相容性及良好的生物活性而备受关注，利用球拟假丝酵母生产生物表面活性剂槐糖脂极大的加速了其产业化进程。对槐糖脂在球拟假丝酵母中的生物合成途径、关键酶的特点和基因工程改造假丝酵母合成新型生物表面活性剂的最新进展进行了综述。为扩展球拟假丝酵母作为糖脂化合物合成底盘细胞提供建议和前景分析。

关键词 槐糖脂 球拟假丝酵母 生物合成

Progress of Biosynthesis of Sophorolipids and its Derivatives Production in *Starmerella bombicola*

ZHANG Ya-guang, ZHANG Chuan-bo, LU Wen-yu

(Department of Biological Engineering and Key Laboratory of Systems Bioengineering of the Ministry of Education, School of Chemical Engineering and Technology, Tianjin University, Tianjin 300072, China)

Abstract Sophorolipids, which is a kind of extracellular products, was produced by *Starmerella bombicola* under aerobic condition. As the member of biosurfactants, sophorolipids has shown excellent surface activity, biodegrade ability, low ecotoxicity and biocompatibility. Research progress of biosynthesis of sophorolipids is summarized in this review, including metabolic pathway, key enzymes and genetic engineering of *S. bombicola*. Basic problems on efficient synthesis of sophorolipids in *S. bombicola* are discussed and a prospect of using *S. bombicola* as a new chassis for sophorolipids biosynthesis is analyzed in this review.

Key words Sophorolipids *Starmerella bombicola* Biosynthesis

槐糖脂（sophorolipids）作为生物表面活性剂，主要由非致病性酵母合成[1]。槐糖脂首次报道见于 1954 年，由于其良好的生物相容性、可降解性、环境兼容性、低毒性，以及抗肿瘤活性引起广泛关注[2]。作为目前产量最高的一种生物表面活性剂，槐糖脂被认为是最能有效替代化学表面活性剂在工业中的应用的物质[3]。在食品行业中，槐糖脂可作为一种食品添加剂以改善食品的口感或是品质；在长途的冷藏运输中，添加少量的槐糖脂可有效防止系统中形成冰颗粒[4]。在石油行业中，槐糖脂具有较强的驱油性，可提高石油开采率。在医药行业中，槐糖脂具有良好的广谱抑菌抗癌功效，使得其在抗肿瘤和杀精药物研发中具有非常高

*天津市科技重大专项与工程项目（16YFXTSF00460）

**通讯作者：卢文玉，E-mail：wenyulu@tju.edu.cn

的研究价值。在日化行业中，槐糖脂在刺激人的真皮成纤维细胞生长方面也有功效，因此在抗衰老的化妆品和药物中有较大研发价值。在纳米科技行业中，槐糖脂还可作为一种机构导向剂发挥作用[5]。目前已报道有 19 种球拟酵母可产生槐糖脂[6-8]，其中利用球拟假丝酵母（*S. bombicola*）生产槐糖脂由于其生产性能稳定成为主要生产菌。目前，槐糖脂的生产工艺研究较多[1]，然而关于其生物合成调控机理的研究却不够深入，因此，本文主要综述了槐糖脂在球拟假丝酵母中生物合成及调控，以及对球拟假丝酵母进行工程改造获得新型槐糖脂的研究进展。

1　槐糖脂结构

槐糖脂是一类具有相似结构的糖脂类生物表面活性剂，由亲水的头部（槐糖部分）和疏水的尾部（脂肪酸）组成[9]。亲水性头部即槐糖部分是由两分子的葡萄糖以β-1,2 糖苷键相结合而形成，疏水性尾部则是长链脂肪酸，脂肪酸与槐糖以β-糖苷键相连构成槐糖脂。根据槐糖脂亲水头与疏水尾部是否相连，其可分为酸型槐糖脂与内酯型槐糖脂，如图 1 所示。亲水头部的槐糖 6'和 6"位置上经乙酰化后，可形成乙酰化酸型/内酯型，非乙酰化酸型/内酯型槐糖脂，脂肪酸分子的饱和性、碳链长度及羟基化位置等使槐糖脂分子结构进一步多样化[10]。

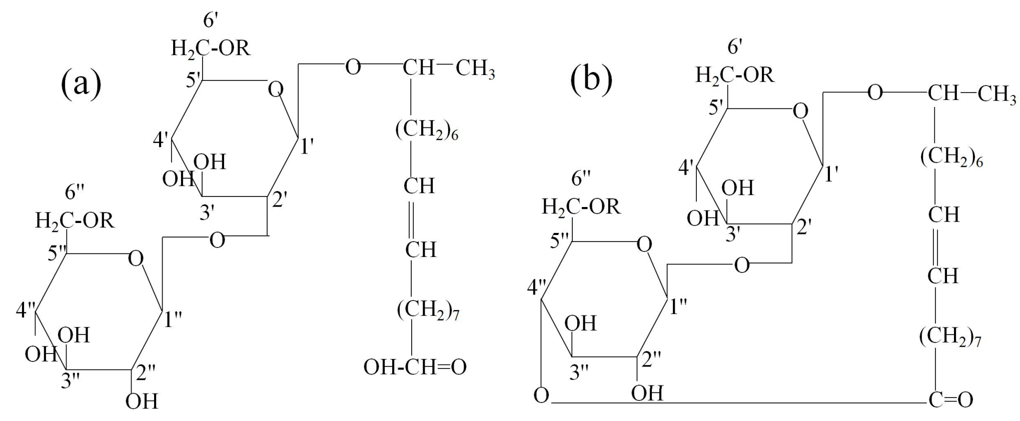


图 1　槐糖脂结构图，（a）酸型槐糖脂，（b）内酯型槐糖脂

Fig. 1 The structure of sophorolipids. (a) Acidic sophorolipids. (b) Lactonic sophorolipids

槐糖脂分子结构的的多样性决定了其功能的多样性，酸型槐糖脂在水溶性以及发泡能力方面性能较好，而内酯型槐糖脂则是在抗菌、降低表面张力方面更胜一筹。除此之外，槐糖脂中的乙酰基团的引入会改变其原有的性质：溶解性降低、抗病毒性增强以及在刺激细胞因子的过程中作用更大。比如，单乙酰槐糖脂（内酯型）相较于非乙酰化槐糖脂（内酯型以及酸型）来说，抗菌性能更好[11, 12]。内酯化过程降低了槐糖脂分子的自由度，因此不像以粘稠油状态存在的酸型槐糖

脂，内酯型槐糖脂多数是以结晶态存在[13]。Shah 等[14]在 2005 年的研究发现，在抗艾滋病毒活性与杀精活性方面，酸型槐糖脂抵抗艾滋病毒的活性要高于内酯型的槐糖脂。而槐糖脂中乙酰基团的加入可同时提高细胞因子刺激活性和抗病毒活性，且随着乙酰化基团的增加，上述效果越来越好。不同结构槐糖脂生物活性在以往的综述中已提及[1]，在此不做赘述。

不同的底物对槐糖脂生物合成具有重要影响。不同底物发酵所得产物槐糖脂结构不尽相同，Shin 等[15]发现用油酸合成的槐糖脂的甲酯比以芥酸为原料所生成的槐糖脂甲酯降解难度更大。除上述外，Ashby 等[13]发现当以不同疏水碳源（例如棕榈酸 、亚油酸、油酸、硬脂酸）为底物生产槐糖脂时，所得到的槐糖脂结构各不相同，在水中除了所达到的最小表面张力变化不大外，其他性质如溶解性、界面张力、临界胶束浓度等均差异巨大。本实验室一直致力于槐糖脂发酵生产优化，槐糖脂的结构种类除了受其基因型决定及上述疏水碳源影响外，发酵所用的亲水碳源、氮源及发酵条件控制均对其有较大影响。此外，培养条件不同，其产生的槐糖脂结构种类不同[16, 17]。

2 槐糖脂生物合成及调控

2.1 槐糖脂的合成途径

槐糖脂由槐糖与脂肪酸通过糖苷键链接而成，其合成过程涉及糖代谢及脂肪酸代谢，如图 2 所示。

2.2.1 ω-/ ω-1 脂肪酸 除内酯化酶外，槐糖脂合成所需基因均位于一个基因簇内。目前一般认为，槐糖脂是从脂肪酸羟基化开始其生物合成的。槐糖脂中脂肪酸来源包括：从培养基中直接获取、利用胞外脂肪酶将脂肪酸的衍生物或烷烃类物质进行水解获得以及从头合成。培养基中仅亲水碳源葡萄糖时，脂肪酸的合成就必须通过糖酵解过程以形成乙酰辅酶 A，再通过脂肪酸重头合成的方式来获取。此理论的槐糖脂合成途径已通过加入脂肪酸的合成抑制剂——浅蓝菌素（cerulenin）的实验加以佐证。此后脂肪酸进一步羟基化为羟基脂肪酸，再由 2 个活化的 UDP-葡萄糖依次通过两步糖基转移作用与之结合，此过程所需的酶包括葡萄糖基转移酶 I 和葡萄糖基转移酶 II。培养基中仅疏水碳源时，假丝酵母同样可以利用其做为唯一碳源进行发酵，假丝酵母可通过相关酶逐步作用，使脂肪酸降解为乙酰辅酶-A，再通过糖异生作用合成 UDP-葡萄糖分子从而合成槐糖脂。

发酵培养基中同时有亲水碳源和疏水碳源时，槐糖脂产量最高，这点可以从理论合成途径中得到解释[18]。

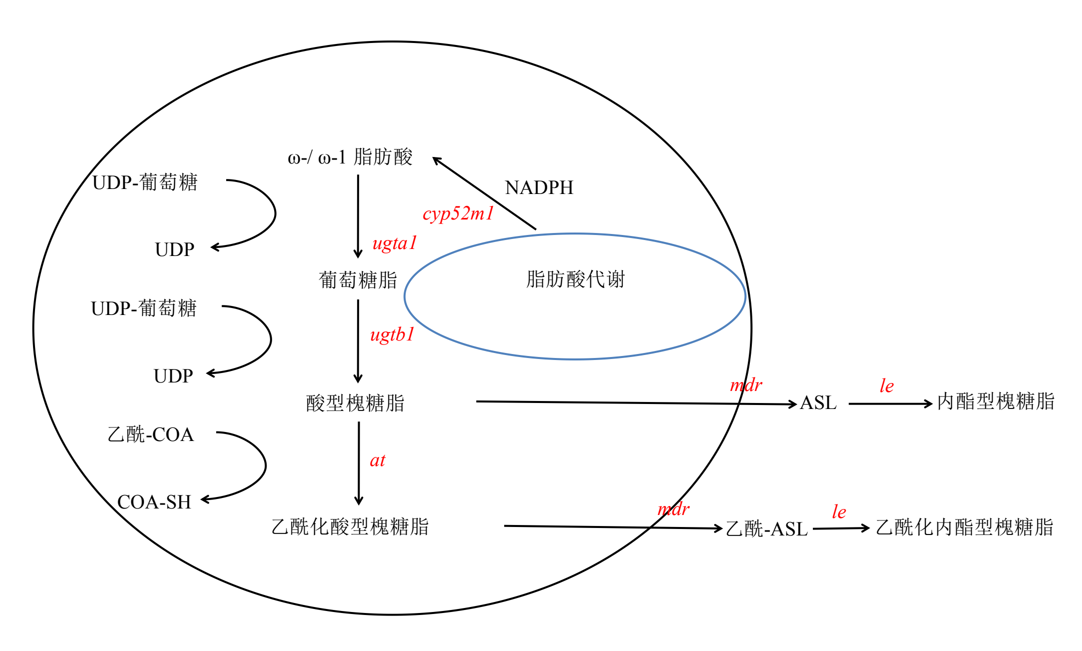


图 2 槐糖脂生物合成途径

Fig. 2 Biosynthesis pathway of sophorolipids

2.1.2 UDP-葡萄糖 Hommel 等[19]通过改变假丝酵母培养基中的亲水碳源发现，不同的亲水碳源加入时，均首先生成 UDP-葡萄糖再合成槐糖脂，说明槐糖脂中的糖分子并非直接从培养基中获取，而是亲水碳源先进行糖酵解，再通过糖异生作用合成三碳糖(或丙糖)，进一步生成 UDP-葡萄糖，再与羟基化的脂肪酸通过葡萄糖基转移酶作用生成酸型槐糖脂，酸型槐糖脂又在乙酰基转移酶以及或内酯化酶的作用下生成带有乙酰基团的内酯型/酸型槐糖脂。所以仅通过改变亲水碳源无法改变槐糖脂中的糖基结构。当然也解释了仅有疏水碳源存在时，假丝酵母依旧可以生产槐糖脂的原因。

2.2 **槐糖脂合成中的关键酶**

2.2.1 细胞色素 P450 单加氧酶 在槐糖脂中，槐糖分子是通过醚键与脂肪酸链相结合的，此醚键稳定异常，很少会受到水解作用破坏，造就了槐糖脂特有的刚性稳定结构。有研究发现，CYP52 系的细胞色素 P450 主要负责脂肪酸链的ω或ω-1 羟基化，同时该酶亦可催化烷烃的羟基化。Van Bogaert 等[20]从 *Candida aplicola* 中扩增得 2 个基因 cyp52El 以及 cyp52E2，它们皆为 CYP52 家族基因，但研究发现，该两个基因都未参加到胞内槐糖脂合成中的羟基化反应。此后，该实验室又以 *Candida bombicola* ATCC 22214 为出发菌株，分析了 CYP52 家族的 9 个基因，

证明在槐糖脂的合成过程中，CYP52M1 参与催化了脂肪酸的羟基化[21]。CYP52 是单加氧酶的Ⅱ级微粒结构，CYP52、NADPH 以及细胞色素还原酶 P450 一同形成电子传递链。由于 CYP52 无法直接对 NADPH 加以利用，故而需利用含 FMN 和 FAD 以及还原态 CPR 方可完成电子的传递，在此过程中 CPR 又可还原 CYP52 的血红素中心从而活化氧分子。研究发现，天然生成的槐糖脂中由于经 CYP52M1 所控制的羟基化过程导致脂肪酸链长度一般保持在 16-18 个碳。经过 CYP52M1 作用后，不同长度的碳链或是经β-氧化作用降解掉多余部分，或是经碳链延长作用增长至 16-18 个碳，所得脂肪酸链方可用于合成产物槐糖脂。此外，脂肪酸碳链的长度还直接影响其羟基化与否以及羟基化位置：发生在末端的羟基化有棕榈酸；没有末端氧化物的有硬脂酸。一般规律为发生在脂肪酸链末端的羟基化随着其碳链的延长作用而不断被削弱。

除却羟基化作用之外，脂肪酸的碳链上同样还可能发生饱和键的去饱和现象，不过这种去饱和作用并非仅限发生在槐糖脂的脂肪酸链形成过程中，而是在整个脂肪酸代谢过程中都普遍存在的现象。但是，假丝酵母能够利用不同类型的植物油生产出较高产量的槐糖脂确是要归功于 CYP52M1 所具有的碳链长度选择的特异性。

2.2.2 葡萄糖转移酶 早在上个世纪的 70-80 年代，就有相关研究发现，利用红酵母 *Rhodotorula Bogoriensis* 通过发酵的方法生产槐糖脂时，在其无细胞提取液中鉴定到有葡萄糖基转移酶的存在，且为两种不同的类型。所以将红酵母中的糖基转移酶命名为葡萄糖基转移酶 I 以及葡萄糖基转移酶 II，推测这两个酶依次作用完成槐糖脂合成过程中的糖基转移：首先，在酵母胞内存在 UDP-葡萄糖和活化了的脂肪酸时，在葡萄糖基转移酶 I 的作用下，两者发生脱水结合，即葡萄糖的 C1'的羟基和脂肪酸链的ω/ω-1 位置的羟基作用后以糖苷键相连。而后再在葡萄糖基转移酶 II 的作用下，另一分子的 UDP-葡糖与上述葡萄糖的 C2'位以糖苷键连接形成槐糖分子。不过，虽然相关学者已经分离出部分上述转移酶，但所分离出的酶已失去活性，故而仍然无法确定糖基转移化反应到底是上述一种酶的反应过程还是两种酶的共同作用结果[22]。

在近期的研究中，学者发现了 UGTA1 和 UGTB1 这两个假定的基因，在某些细菌合成抗生素作用的过程中催化糖基化转移的酶与其具有同源性。通过实验

发现，在常用的含有亲水碳源和疏水碳源的培养基中，敲除上述两个假定基因中的任何一个的菌种均不能生产槐糖脂，这个进一步验证了此猜想的正确的。此后Saerens 等[23]通过获取白色假丝酵母的各种突变株，并对其进行无细胞提取，检测槐糖脂的各种中间代谢物，证明了在白色假丝酵母中，槐糖脂合成过程中的糖基化转移步骤确实有两个不同的糖基转移酶进行催化。

在葡萄糖基转移酶 II 的催化下，第二个葡糖分子与第一个葡糖通过糖苷键相连后，最简单的不含乙酰基团的酸型槐糖脂就此形成。槐糖脂的内酯化作用一般是由葡糖基第四号位的碳与脂肪酸链的碳末端羧基相互作用完成的，不过在极个别的情况下，也有葡糖基第六号位的碳取代四号位的碳发生内酯化反应。虽然相关学者一直认为是由特定专一的内酯化酶催化该反应的进行，但到目前为止，并未有任何报道发现白色假丝酵母中存在该种酶。

2.2.3 乙酰基转移酶　非乙酰化的酸型及内酯型槐形成后，接下来要发生的就是槐糖脂的乙酰化过程，一般情况下在特定的乙酰基转移酶的作用下由乙酰辅酶 A 加之到葡糖基的第六号位的碳上形成乙酰化的结构。由此可形成单乙酰化/双乙酰化等结构的槐糖脂。这种催化乙酰化的酶已被相关学者从红酵母中分离出来，其结构与白色假丝酵母中的乙酰化酶极为相似[24]。

2.2.4 槐糖脂转运蛋白　从发现槐糖脂到现在有 60 余年，槐糖脂已得到广泛应用，但尚未发现槐糖脂是如何由胞内大量排到发酵液中。槐糖脂的运输过程，可能有液泡的参与，也可能由运输蛋白介导。到目前为止，仍然没有证据表明此类转运蛋白的存在。

通过对槐糖脂合成基因簇的分析，发现一个疑似的多重耐药性蛋白（MDR），通过对这个假设基因的翻译表达得到一个含有 1299 个氨基酸的蛋白质。该蛋白质与一些曲霉菌属中的 ABC 广谱抗药性转运蛋白有 49%的同源性，这些转运蛋白参与外源性物质的转运排出及抗生素的分泌。例如，曲霉菌中转运蛋白 AtrDp，一方面增加曲霉菌对细胞毒素的耐受性，同时又促进青霉素的分泌[25, 26]。氨基酸序列分析显示 MDR 结构中存在由 12 个跨膜螺旋以及 2 个核苷酸结构域构成的类似同源二聚体（TM-NBD）$_2$ 构造[27, 28]，而通过对比球拟假丝酵母野生株与敲除 MDR 基因的突变株，Bogaert 等[29]发现，纵然突变株菌体生长未受到影响，但其中槐糖脂产量不及野生株产量的 10%。MDR 可能为那个一直缺失的参与槐

糖脂转运的转运蛋白。

2.2.5 内酯化酶（*le*） 槐糖脂的内酯化作用一般是由葡糖基第四号位的碳与脂肪酸链的碳末端羧基相互作用完成的，不过在极个别的情况下，也有葡糖基第六号位的碳取代四号位的碳发生内酯化反应。酸型槐糖脂合成过程中所涉及的酶早在多年前便有相关学者发现并进行研究，而内酯型槐糖脂在内酯化过程所涉及的酶则是在最近几年才取得研究突破。Ciesielska 等[30]通过对假丝酵母不同生长时间的蛋白质组进行表征并与已知酵母对应的蛋白质组比较，发现其中一种酶与担子菌纲的脂肪酶具有同源性，而通过培养该基因的敲除突变株发现无槐糖脂内酯化发生，从而证实该酶是促使槐糖脂发生内酯化作用的关键酶。在随后的研究中，该学者通过两步提纯法获得了纯化的内酯化酶（SBLE），并通过实验证实 SBLE 能够促使酸型槐糖脂发生内酯化作用，同时进行酶动力学分析，发现 SBLE 最适 pH 为 3.5-6.0，最适温度为 20-50 ℃[31]。

3 基因工程改造球拟假丝酵母合成新型槐糖脂

2008 年，Van Bogaert[32]等克隆并够建了球拟假丝酵母尿嘧啶营养缺陷性，自此开始了对槐糖脂合成途径阐释及基因工程改造。其课题组，通过分别敲除槐糖脂合成途径关键基因，不仅阐释了槐糖脂在球拟假丝酵母中的合成途径，同时获得了不同的基因工程假丝酵母菌株。研究发现，敲除糖基转移酶 1 基因（*ugtA1*）或脂肪酸单氧化酶基因（*cyp52M1*）均使该菌不再产生槐糖脂[21, 22]；通过敲除糖基转移酶 2 基因（*ugtB1*），使球拟假丝酵母生产葡萄糖脂[18]；通过调控内酯化酶基因（*le*），使假丝酵母合成酸型槐糖脂或内酯型槐糖脂[33]；通过敲除乙酰化酶（*at*），专一性生产非乙酰化槐糖脂[34]；同时敲除乙酰化酶与内酯化酶基因，使基因工程菌株合成电解质型表面活性剂，研究发现，该新型表面活性剂的产生是由于糖基转移酶 UGTA1 与 UGTB1 的不专一性，使其能以酸型非乙酰化槐糖脂为底物，将两分子葡萄糖添加到槐糖脂脂肪酸羧基端[35]。除对槐糖脂生物合成基因进行调控，敲除脂肪酸氧化途径关键性酶 MFE-2，可使相应基因工程菌株在添加中等碳链长度烷醇条件下，合成中等碳链长度的槐糖脂[36]。

2015 年，球拟假丝酵母基因组测序完成，这为槐糖脂合成调控基因阐释及进一步的基因工程改造提供了巨大帮助[37]。通过基因组序列分析，Li 等[38]发现并注释了与槐糖脂合成代谢相关的单加氧酶 MOA 及长链脂肪酸转运蛋白

ALCS。MOA 蛋白能特异性的降解 C18:2 双乙酰化酸型槐糖脂，将该基因过表达，发现改造菌株不能合成 C18:2 双乙酰化酸型槐糖脂。同样，通过缺失 ALCS 蛋白也能改变球拟假丝酵母合成槐糖脂的类型[39]。Fumikazu 等[40]在假丝酵母中克隆并鉴定了一个乙醇氧化酶基因（*FAO1*），通过构建基因敲除表达盒，构建了球拟假丝酵母 *FAO1* 基因缺陷型菌株，使工程菌能够以十四烷醇为底物合成烷基糖苷类（APGs）生物表面活性剂。

4 展望

结合现有研究表明，利用球拟假丝酵母合成槐糖脂及其衍生物具有重要意义。目前利用球拟假丝酵母生产槐糖脂的合成路径已被阐明，但具体合成调控机理尚未见报道，因此槐糖脂的合成调控机理的研究是未来该领域发展的一个方向。另外，利用基因工程手段改造球拟假丝酵母合成生物表面活性剂槐糖脂及其衍生物极大的拓宽了其应用范围。其后续应用探索一方面应继续增强其结构多样化即新型槐糖脂衍生物的发掘，另一方面也要进一步获取单一结构类型的槐糖脂，这对其性能研究特别是医药用途具有重要研究价值。同时，随着合成生物学技术的发展，利用球拟假丝酵母为底盘生产相关化合物成为可能，如 Sophie 等[41]利用球拟假丝酵母生产纤维二糖脂。然而，球拟假丝酵母对常用的抗生素如：G418，博来霉素等均有抗性，目前用于其基因工程改造的筛选标记仅限于尿嘧啶营养缺陷性、潮霉素抗性，筛选标记的获取或重复利用方法的开发也至关重要。

参考文献

[1] Van Bogaert I, Saerens K, De Muynck C, et al. Microbial production and application of sophorolipids. Applied Microbiology and Biotechnology, 2007, 76(1):23.
[2] Banat I M, Makkar R S, Cameotra S S. Potential commercial applications of microbial surfactants. Applied Microbiology and Biotechnology, 2000, 53(5):495-508.
[3] Kim S Y, Oh D K, Lee K H, et al. Effect of soybean oil and glucose on sophorose lipid fermentation by Torulopsis bombicola in continuous culture. Applied Microbiology and Biotechnology, 1997, 48(1):23-6.
[4] Cooper D G, Paddock D A. Production of a Biosurfactant from Torulopsis bombicola. Applied & Environmental Microbiology, 1984, 47(1):173.
[5] Baccile N, Nassif N, Malfatti L, et al. Sophorolipids: a yeast-derived glycolipid as greener structure directing agents for self-assembled nanomaterials. Green Chemistry, 2010, 12(9):1564-1567.
[6] Makkar R, Cameotra S. An update on the use of unconventional substrates for biosurfactant production and their new applications. Applied Microbiology and Biotechnology, 2002, 58(4):428-34.
[7] Otto R T, Daniel H J, Pekin G, et al. Production of sophorolipids from whey. II. Product composition, surface active properties, cytotoxicity and stability against hydrolases by enzymatic treatment. Applied Microbiology & Biotechnology, 1999, 52(4):495-501.
[8] Cavalero D A, Cooper D G. The effect of medium composition on the structure and physical state of sophorolipids produced by Candida bombicola ATCC 22214. Journal of Biotechnology, 2003, 103(1):31-41.
[9] Daniel H J, Syldatk C R M. Production of sophorolipids in high concentration from deproteinized whey and

rapeseed oil in a two stage fed batch process using Candida bombicola ATCC 22214 and Cryptococcus curvatus ATCC 20509. Biotechnology Letters, 1998, 20(12):1153-1156.
[10] Rau U, Manzke C, Wagner F. Influence of substrate supply on the production of sophorose lipids by Candida bombicola, ATCC 22214. Biotechnology Letters, 1996, 18(2):149-154.
[11] Asmer H J, Lang S, Wagner F, et al. Microbial production, structure elucidation and bioconversion of sophorose lipids. Journal of the American Oil Chemists' Society, 1988, 65(9):1460-1466.
[12] Davila A M, Marchal R, Monin N, et al. Identification and determination of individual sophorolipids in fermentation products by gradient elution high-performance liquid chromatography with evaporative light-scattering detection. J Chromatogr, 1993, 648(1):139-149.
[13] Ashby R D, Nuñez A, Solaiman D K Y, et al. Sophorolipid biosynthesis from a biodiesel co-product stream. Journal of the American Oil Chemists' Society, 2005, 82(9):625-630.
[14] Shah V, Doncel G F, Seyoum T, et al. Sophorolipids, microbial glycolipids with anti-human immunodeficiency virus and sperm-immobilizing activities. Antimicrobial Agents & Chemotherapy, 2005, 49(10):4093-100.
[15] Shin J D, Lee J, Kim Y B, et al. Production and characterization of methyl ester sophorolipids with 22-carbon-fatty acids. Bioresource Technology, 2010, 101(9):3170-4.
[16] Jia X, Qi L, Zhang Y, et al. Computational fluid dynamics simulation of a novel bioreactor for sophorolipids production. Chinese Journal of Chemical Engineering, 2016.
[17] Yang X, Zhu L, Xue C, et al. Recovery of purified lactonic sophorolipids by spontaneous crystallization during the fermentation of sugarcane molasses with Candida albicans O-13-1. Enzyme & Microbial Technology, 2012, 51(6–7):348-353.
[18] Ina V B, Develter D, Soetaert W, et al. Cerulenin inhibits de novo sophorolipid synthesis of Candida bombicola[J]. Biotechnology Letters, 2008, 30(10):1829.
[19] Hommel R K, Stegner S, Kleber H P, et al. Effect of ammonium ions on glycolipid production by Candida, (Torulopsis) apicola. Applied Microbiology and Biotechnology, 1994, 42(2):192-197.
[20] Van Bogaert I N, Groeneboer S, Saerens K, et al. The role of cytochrome P450 monooxygenases in microbial fatty acid metabolism. Febs Journal, 2011, 278(2):206-21.
[21] Van Bogaert I N A, Demey M, Develter D, et al. Importance of the cytochrome P450 monooxygenase CYP52 family for the sophorolipid-producing yeast Candida bombicola. FEMS yeast research, 2009, 9(1): 87-94.
[22] Saerens K M J, Roelants S L K W, Van Bogaert I N A, et al. Identification of the UDP-glucosyltransferase gene UGTA1, responsible for the first glucosylation step in the sophorolipid biosynthetic pathway of Candida bombicola ATCC 22214. Fems Yeast Research, 2011, 11(1):123–132.
[23] Saerens K M J, Roelants S L K W, Van Bogaert I N A, et al. Identification of the UDP-glucosyltransferase gene UGTA1, responsible for the first glucosylation step in the sophorolipid biosynthetic pathway of Candida bombicola ATCC 22214. Fems Yeast Research, 2011, 11(1):123 – 132.
[24] Saerens K M, Saey L, Soetaert W. One-step production of unacetylated sophorolipids by an acetyltransferase negative Candida bombicola. Biotechnology & Bioengineering, 2011, 108(12):2923-31.
[25] Andrade A C, Nistelrooy J G M V, Peery R B, et al. The role of ABC transporters from Aspergillus nidulans, in protection against cytotoxic agents and in antibiotic production. Molecular Genetics and Genomics, 2000, 263(6):966-977.
[26] Krogh A, Larsson B, Von H G, et al. Predicting transmembrane protein topology with a hidden Markov model: application to complete genomes. Journal of Molecular Biology, 2001, 305(3):567.
[27] Van Bogaert I N, Holvoet K, Roelants S L, et al. The biosynthetic gene cluster for sophorolipids: a biotechnological interesting biosurfactant produced by Starmerella bombicola. Molecular Microbiology, 2013, 88(3):501-9.
[28] Dawson R J P, Locher K P. Structure of the multidrug ABC transporter Sav1866 from Staphylococcus aureus in complex with AMP – PNP. Febs Letters, 2007, 581(5):935.
[29] Bogaert I N A V, Zhang J, Soetaert W. Microbial synthesis of sophorolipids. Process Biochemistry, 2011, 46(4):821-833.

[30] Ciesielska K, Van Bogaert I N, Chevineau S, et al. Exoproteome analysis of Starmerella bombicola results in the discovery of an esterase required for lactonization of sophorolipids.. 2014, 98(4):159-174.

[31] Ciesielska K, Roelants S L K W, Bogaert I N A V, et al. Characterization of a novel enzyme— Starmerella bombicola, lactone esterase (SBLE)—responsible for sophorolipid lactonization. Applied Microbiology & Biotechnology, 2016, 100(22):1-13.

[32] Van Bogaert I N, De Maeseneire S L, Develter D, et al. Development of a transformation and selection system for the glycolipid-producing yeastCandida bombicola. 2008, 25(4):273-278.

[33] Roelants S L K W, De Maeseneire S L, Ciesielska K, et al. Biosurfactant gene clusters in eukaryotes: regulation and biotechnological potential. Applied microbiology and biotechnology, 2014, 98(8): 3449-3461.

[34] Saerens K M J, Saey L, Soetaert W. One‐step production of unacetylated sophorolipids by an acetyltransferase negative Candida bombicola. Biotechnology and bioengineering, 2011, 108(12): 2923-2931.

[35] Van Bogaert I N A, Buyst D, Martins J C, et al. Synthesis of bolaform biosurfactants by an engineered Starmerella bombicola yeast. Biotechnology and Bioengineering, 2016, 113(12): 2644-2651.

[36] Van Bogaert I N A, Sabirova J, Develter D, et al. Knocking out the MFE-2 gene of Candida bombicola leads to improved medium-chain sophorolipid production. FEMS yeast research, 2009, 9(4): 610-617.

[37] Matsuzawa T, Koike H, Saika A, et al. Draft genome sequence of the yeast Starmerella bombicola NBRC10243, a producer of sophorolipids, glycolipid biosurfactants. Genome announcements, 2015, 3(2): e00176-15.

[38] Li J, Li H, Li W, et al. Identification and characterization of a flavin-containing monooxygenase MoA and its function in a specific sophorolipid molecule metabolism in Starmerella bombicola. Applied microbiology and biotechnology, 2016, 100(3): 1307-1318.

[39] Li J, Xia C, Fang X, et al. Identification and characterization of a long-chain fatty acid transporter in the sophorolipid-producing strain Starmerella bombicola. Applied microbiology and biotechnology, 2016, 100(16): 7137-7150.

[40] Takahashi F, Igarashi K, Hagihara H. Identification of the fatty alcohol oxidase FAO1 from Starmerella bombicola and improved novel glycolipids production in an FAO1 knockout mutant. Applied microbiology and biotechnology, 2016, 100(22): 9519-9528.

[41] Roelants S L K W, Saerens K M J, Derycke T, et al. Candida bombicola as a platform organism for the production of tailor‐made biomolecules. Biotechnology and bioengineering, 2013, 110(9): 2494-2503.